Istituto Chirurgico della Regia Università di Roma
diretto dal Prof. F. DURANTE

SULLA

BIOLOGIA DEI TESSUTI EMBRIONALI

E DEI

NEOPLASTICI

PEL DOTTOR

G. FICHERA



MILANO
CASA EDITRICE DOTTOR FRANCESCO VALLARDI
Corso Magenta, N. 48.

Istituto Chirurgico della Regia Università di Roma
diretto dal Prof. F. DURANTE

SULLA

BIOLOGIA DEI TESSUTI EMBRIONALI

E DEI

NEOPLASTICI

PEL DOTTOR

G. FICHERA



MILANO
CASA EDITRICE DOTTOR FRANCESCO VALLARDI
Corso Magenta, N. 48.

Estratto dalla *Gazzetta degli Ospedali e delle Cliniche*
N. 109 Anno 1910

Stabilimenti Riuniti d'Arti Grafiche — Milano, Corso Magenta N. 48

Nell'intenso lavoro iniziato da alcuni anni presso vari centri di studì sul cancro, è sembrato a molti patologi metodo utilissimo quello degli innesti, e sono ormai numerosi i contributi arrecati in base a tale mezzo d'indagine.

Ma l'esame isolato dell'evoluzione e del destino di singoli innesti di tumori non poteva, oltre certi limiti, rischiarare gli oscuri problemi fondamentali.

Perciò nell'intraprendere le mie ricerche sull'etiologia e genesi dei blastomi, fin dal principio, istituii un raffronto sulla biologia generale degli elementi dotati di attive proprietà di sviluppo, muovendo dall'investigazione metodica, parallela degli innesti embrionali e degli innesti neoplastici.

A me è parso che, sin allora, 1907, le indagini fossero state condotte dissociatamente, e di conseguenza le nozioni da esse derivanti fossero rimaste prive di legami. Mentre, ho creduto potesse tornar utile esaminare le condizioni di attecchimento, di sviluppo, di involuzione, dei tessuti prescelti, avendo a guida criteri comuni di prova e di giudizio.

Quindi, iniziai tale studio comparativo improntando gli esperimenti all'indirizzo ed ai metodi odierni, specie della dottrina immunitaria, ed in particolar modo alle leggi di correlazione.

A questi principî informatori della complessa analisi aggiunsi l'applicazione costante della valutazione microscopica, quasi sempre, sino a quell'epoca, tralasciata, per dar posto al semplice rilievo del decorso.

Invero, mi attendevo che la cognizione morfologica completasse le constatazioni obiettive, grossolane, e nei casi di con-

corde reperto chiarisse il meccanismo intimo di fenomeni biologi controversi.

Di fatti l'associazione all'esperimento biologico dell'esame minuto, mi riuscì un proficuo sistema di lavoro, onde ottenni i primi risultati esposti a partire dal 1908.

Nel tempo intercorso, il metodo dello studio comparativo degli innesti col controllo microscopico, per merito intrinseco e per maturità di concetti, si è diffuso ed ha ispirato diversi sperimentatori, le cui principali conclusioni armonizzano con le mie. A conferma cito tra i più noti, Schoene, Russell, Askanazy, v. Dungern, Da Fano, Rous, Burgess, Gussio.

La mia attenzione nelle esperienze, compiute prevalentemente su ratti, si è a lungo fermata ad esaminare, sotto il duplice aspetto biologico e morfologico: il decorso degli innesti, l'attecchimento, lo sviluppo seguìto da involuzione spontanea di essi o da morte dell'animale portatore; l'influenza di temperature estreme, 44°-0°; il diverso comportamento e la differente struttura degli innesti omogenei e di quelli eterogenei; l'importanza della sede d'innesto per la sorte dei vari tessuti; l'influenza della gravidanza e la disparità di reperto a seconda che si pratichi o si tralasci la isterectomia; il destino dei vari costituenti nelle poltiglie miste embrionali e neoplastiche; le modificazioni indotte nella recettività dell'ospite dai procedimenti d'immunizzazione, con innesti preventivi; gli effetti degli autolizzati fetali o neoplastici omogenei sugli innesti in via di accrescimento, le proprietà del siero di sangue degli animali sottoposti a varî trattamenti.

Da tutti questi ordini di fatti, e da altri ancora, emersero molteplici e concordi elementi, i quali, sempre meglio integrandosi, mi spinsero ad una più stretta comparazione, e condussero alla prova che molti fenomeni sono comuni così alla biologia dei tessuti embrionali o fetali come a quella dei tessuti neoplastici, che molte reazioni generali o locali dell'organismo ospite si avverano in entrambi i casi, che complessi fattori esplicano il loro potere nelle due contingenze.

Dalla somma delle numerose e vicendevoli constatazioni ho tratto alcuni corollari, che meritano speciale menzione.

In effetti, con l'uso di tessuti certamente asettici ed in condizioni di rigorosa asepsi, si sono assodati fenomeni che si credeva potessero accadere solo in presenza di germi.

Contemporaneamente è stata dimostrata la necessità della presenza di elementi cellulari integri per l'attecchimento di ogni innesto.

D' altra parte è stato facile mutare le attitudini di recettività dell'ospite all'innesto, adoperando tessuti normali, ed ancor più, è divenuto possibile influire sull' attecchimento già rigoglioso, mediante prodotti cellulari.

Questi fatti hanno infirmato l'opinione di coloro i quali ritengono la presenza di microrganismi indispensabile all' intelligenza di alcuni capitoli della biologia dei tumori, ed hanno battuto la dottrina della etiologia parassitaria.

Un' altra serie non meno ricca e valida di fatti ha sempre meglio scoperto le analogie di proprietà tra tessuti normali, specie dell'embrione o del feto, e tessuti neoplastici.

Basta ricordare l'affinità o addirittura l'identità di comportamento dei derivati dai vari foglietti germinativi nelle poltiglie, sia di embrione sia di tumore, di fronte alle alte o basse temperature; l'esito degli innesti, tanto embrionali quanto neoplastici, in rapporto alla concorrenza che nella propria nutrizione possono subire per la gravidanza dell'ospite, la refrattarietà conferita ad animali sensibili verso stipiti neoplastici virulentissimi così da tessuti normali che neoplastici, l'azione regressiva, citolitica, esercitata da autolizzati fetali omogenei su innesti vuoi embrionali vuoi neoplastici.

Tali fatti, da me altrove esposti minutamente, estendono il dominio delle leggi di biologia cellulare, facendovi rientrare molti dei caratteri dei tumori, riducendo questi, che sembravano neoformazioni fuori dei comuni confini dei processi progressivi, entro i limiti della patologia cellulare.

Certo i neoplasmi rimangono sempre individualizzati da caratteri propri definiti, ma col sussidio delle recenti acquisizioni scientifiche, essi vanno considerati alla stregua di altre produzioni patologiche, e di altre aberrazioni dello sviluppo, indipendenti da fattori parassitari.

Sino l'attributo essenziale, dell'accrescimento indefinito seguito da morte, non pare ineluttabile nella rigorosa, infallibile costanza onde è stato segnato. Oggi, non solo vari i clinici ma anche taluni anatomo-patologi, Rotter, Orth, Denecke, Becher, Schwarz, illustrano casi di guarigione sia pure parziale di tumori maligni, di guisa che l' annotazione di cambiamenti nei sintomi è avvalorata da reperti istologici.

Tuttavia si tratta di osservazioni eccezionali, che presto aumenterebbero se si volessero riconoscere ai tessuti connettivi cicatriziali nello spessore dei tumori le note di territorî di sostituzione.

Nè si può disconoscere che per l'uomo nella catena dei neoblastomi tra neoplasmi maligni, neoplasmi a lento decorso, neoplasmi benigni e casi di guarigione, anche a semplici zone, non si trovano ancora le caratteristiche e gli anelli d' unione per distinguere e collegare, senza esitazioni, tumori virulenti, letali, tumori avirulenti a sviluppo tardo e tumori ad involuzione spontanea; differenziazione che si può fare agevolmente negli animali.

Malgrado queste lacune, che man mano vengono esaminate sono meglio comprese e si vanno colmando, lo studio comparato degli innesti embrionali e neoplastici, inteso e compiuto nel modo esposto, conduce in questo orientamento ed incoraggia a moltiplicare i tentativi e approfondire la ricerca; allo scopo di mettere in luce se e quali siano le condizioni per cui il grande complesso di strutture e di funzioni cellulari rappresentato dall'organismo umano, a somiglianza di quello animale in genere, possa modificare la propria disposizione ai tumori od influire sulla biologia loro.

A tale indagine, che costituisce la sintesi di altre preliminari insieme concatenate, sono pervenuto', iniziando nel 1909 una serie di prove sull'uomo, per la quale ho avuto a norma più che ciascuna, tutte insieme le risultanze sperimentali, convalidate da cognizioni statistiche e cliniche.

Recentemente ho esposto le tre fonti di maggior stimolo, che sono, nel tempo stesso i tre più validi sostegni della prova intrapresa, e che credo quindi, opportuno riportare.

1.° La osservazione della estrema rarità con cui si riscontrano tumori maligni spontanei nei ratti giovani.

Ciò che ricorda l'assenza o l'eccezionalità di neoplasmi semplici o istioidi propriamenti detti nei neonati o in soggetti della giovane età, e lascia credere che nelle prime epoche della vita non si integrino i fattori intrinseci indispensabili alla genesi dei tumori maligni.

2.° La constatazione della frequente e notevole resistenza che i ratti recettivi ai neoplasmi acquistano per innesti precedenti di tessuti embrionali o fetali.

Fenomeno che fa pensare a sostanze contenute o provenienti dai tessuti fetali innestati, le quali, mettendosi lentamente in libertà nell'ospite, rendono questo disadatto alla successiva prova con tumori virulenti.

3.° La dimostrazione che tessuti embrionali o fetali omogenei autolizzati, per iniezioni sottocutanee od in sito, deter-

minano la involuzione di innesti rigogliosi di stipti neoplastici, che ordinariamente dànno il 100 su 100 di attecchimento e di morte.

Fatto che accredita l'esistenza di sostanze derivanti dai tessuti prescelti durante il processo di autolisi, le quali introdotte nell'organismo per iniezione, vi agiscono rispetto ai tumori allo stesso modo di quelle in esso liberatesi per innesti preventivi, di poltiglia embrionale o fetale.

Di questi tre dati il secondo, già noto da qualche anno, ha ricevuto la sanzione di molti Autori, ond'è ormai riconosciuto che animali adatti agli innesti neoplastici si possono rendere refrattarî con innesti preliminari di tessuti normali adulti o embrionali, e di stipiti di tumori non molto virulenti. Avendo eseguito ricerche sperimentali comparative ho preferito per le prove cliniche i tessuti embrionali o fetali, perchè mi han procurato la più alta percentuale di refrattarietà acquisita, perchè adoperando tessuti omogenei, i quali non devono esser sottoposti a procedimenti chimici o meccanici violenti, evitano ogni pericolo di innesto neoplastico.

Data la comunanza di proprietà anche nei poteri detti immunizzanti, fra tessuti embrionali e neoplastici, si tratta di considerazioni che fanno accordare la preferenza ai primi, i secondi non vanno senz'altro esclusi, io stesso da tempo li ho adoperati, specie nelle particolari condizioni che accennerò appresso.

Ma, se l'innesto di tessuti embrionali per le ricerche mie e per quelle di von Dungern, Bashford, Murray e Cramer, Schoene Michaelis, Moreschi si era mostrato efficace nell'uso preventivo, non era senz'altro applicabile all'uomo.

Invero, non si può ancora ammettere una profilassi attiva contro i tumori maligni, perchè è tutt'altro che risolta la questione della ereditarietà; la quale anzi, insieme con quella del contagio, viene ogni giorno più combattuta; nè si è in grado di stabilire con sicurezza i così detti stadî precancerosi, in cui finoggi non si vedono che gli stadi iniziali di tumori veri e propri.

In ogni caso per il tentativo sull'uomo occorreva trovare un mezzo che equivalesse o sostituisse l'uso della poltiglia di tessuti sia embrionali sia neoplastici; non potendosi pensare alla tecnica delle cavità operate nel sottocutaneo degli animali per deporvi tumori o embrioni in frammenti.

Gli autolizzati dei tessuti medesimi nei ratti dimostrarono

di risolvere i principali ostacoli superando le difficoltà tecniche di impiego, e concedendo un vantaggio di tempo sugli innesti, poichè il processo di liberazione dei principî attivi è già compiuto *in vitro.*

Avendo dunque, riscontrato nei prodotti di autolisi fetali omogenei il mezzo più acconcio, intrapresi le prove nell'uomo, su tumori maligni inoperabili. In via preliminare ho già esposti altrove i primi risultati, i quali riguardano notevoli modificazioni cliniche ed anatomiche, assai chiare in alcuni casi.

Obbiettivamente si può avere un rallentamento, una sosta, un'involuzione e in qualche caso la scomparsa della intumescenza neoplastica.

Anatomicamente si avverano trasformazioni che talvolta raggiungono espressione altissima, per grado e latitudine, lasciando ammettere almeno, per le regioni venute in esame la guarigione.

Ho già rilevato in questi termini i risultati dell'esame microscopico: Il trattamènto in sito, per iniezioni parenchimatose, provoca la comparsa di zone emorragiche, necrobiotiche o necrotiche assai più numerose ed estese di quelle che determina il trattamento a distanza, per iniezioni generali; nel quale è carattere precipuo la citolisi, con sostituzione connettiva moderata.

Tolta questa differenza sono reperti costanti e successivi: la citolosi diffusa delle cellule neoplastiche, gradatamente accentuantesi fino alla perdita della entità morfologica e al disgregamento dei costituenti; l' infiltrazione prevalentemente parvi cellulare intensa, più marcata intorno ai vasi di vario ordine; la penetrazione di numerosi elementi micro e macrofagi e di plasma-cellule; l'attiva proliferazione connettivale e vascolare invadente in breve tutti i campi, di cui alcuni con cellule giganti; la sostituzione delle masse con tessuti connettivi adulti, fibrillari, sclerotici; la cessazione, infine, di tutti i fenomeni reattivi e produttivi d'infiltrazione e moltiplicazione.

In taluni casi vi è stimolazione vascolare intensa a tipo linfagogo; onde si ha turgore dei tessuti neoplastici ed aumento cospicuo di volume, con cambiamento della consistenza sino a raggiungere una netta fluttuazione. L'aspirazione fornisce in tale contingenza un liquido giallo-citrino limpido, o contenente in sospensione dei brandelli biancastri, dai caratteri di trasudato. Eliminata la imbibizione o la raccolta, la sostituzione del tessuto già colpito da degenerazione vacuolare e da citolisi avviene con le modalità solite.

Queste nel loro insieme, per la esperienza che ne ho acquistato, formano un quadro perfettamente paragonabile a quello da me descritto per i sarcomi maligni dei ratti trattati con autolisati omogenei, di conseguenza raffrontabile a quello dei sarcomi e degli epiteliomi portati su ratti preventivamente preparati con innesti embrionali o fetali; quindi, ravvicinabile a quello che offrono i tumori avirulenti ad involuzione spontanea e gli innesti embrionali nel secondo periodo del loro ciclo, ossia, nella fase di regressione e scomparsa.

Si tratta, dunque, di fenomeni fisio-patologici esplicantisi secondo leggi generali ed evolventi con maggior intensità ed estensione a seconda della misura e del concorso di complessi fattori.

Ora, ove si pensi che questi stessi caratteri istologici presentano per zone più o meno considerevoli molti tumori, e si consideri il significato di territori di guarigione spontanea che ad esse ha attribuito apertamente la scuola anatomo-patologica di Berlino, vien subito il quesito se proprio negli autolizzati embrionali o neoplastici non si debba vedere il sussidio più affine agli insufficienti, naturali mezzi di difesa, e non si possa sperare di elevare ed estendere la sostituzione a tal segno da ottenere delle guarigioni stabili.

Certo difficoltà di differente grado e natura si oppongono ancora per innalzare a dignità di metodo corrente, sicuro il mezzo d'indagine conseguito.

Ad esempio, poichè molti dati inducono ad accettare un'azione diretta, e non una mediata, ne segue un rapporto tra volume del tumore e dose di autolizzato. Donde la necessità di proporzionare questi due termini; ciò che si può ottenere, da una parte con la demolizione dei neoplasmi di grandi dimensioni, per agire sui residui non asportabili o non visibili e sulle metastasi, dall'altra tentando di aumentare la dose di iniezione.

A questo riguardo io ho scritto in una nota precedente che la quantità media di prodotti di autolisi impiegata è di 2 a 3 centimetri cubici due a quattro volte la settimana. Tale comune misura, negli ultimi tempi, ho superato gradatamente o ravvicinando le singole iniezioni, sino a ridurle quotidiane, ovvero crescendo frazionatamente la dose dopo filtrazione su garza o su carta, per eliminare le parti più corpuscolate, o solide: dietro l'osservazione che, il residuo di ogni autolizzato era meno ben tollerato tosto che si giungeva agli ultimi avanzi.

Inoltre, ultimamente, per la miglior tolleranza e sopra tutto per la maggiore indifferenza verso i protoplasmi cellulari ho preferito il timolo all'acido fenico, negli autolizzati.

I mezzi atti a ridurre la differenza di rapporto fra massa neoplastica e principî attivi, richiedono ogni considerazione per accorciare i termini della cura. Ciò è della massima importanza perchè una reazione, pur lenta, dell'organismo alle sostanze immesse potrebbe portare alla neutralizzazione degli elementi attivi dell'autolizzato, ed all'arresto dei processi di citolisi specifica e di conseguente sostituzione, già iniziati.

Anche sotto questo riguardo meritano la preferenza gli autolizzati fetali omogenei, conoscendosi che la reazione dell'organismo con produzioni di anti-corpi, in genere, è tanto più pronta ed energica quanto meno affine sono le sostanze che vi pervengono.

A questa eventuale sfavorevole condizione deve provvedersi cercando di abbreviare, intensificare il trattamento ; ed a ciò rispondono i mezzi sopraccennati. Ma a porvi riparo, in altro modo, entro certi limiti, ho creduto utile impiegare per lo stesso soggetto, autolizzati fetali, omogenei, diversi e intercalare di tempo in tempo periodi di sospensione, ed in alcuni casi brevi serie di iniezioni di autolizzati neoplastici. Ciò per fermare in tempo o vincere soste nell'involuzione per supposte reazioni organiche; le quali, com'è assicurato in fisio-patologia, sono strettamente e delicatamente in rapporto con la intima natura delle sostanze ciascuna volta adoperate.

Un tentativo a base scientifica più chiara e sicura si potrebbe istituire avendo a scopo la preparazione di un siero neutralizzante, a sua volta, le anti-sostanze; provvedimento che non è ancora facile o possibile. Poichè, se ho mostrato di non trascurare l' ostacolo in esame, questo è fondato piuttosto su considerazioni dottrinarie generali che su dati di fatto: in vero non si ha la dimostrazione attendibile di anti-corpi negli individui affetti da tumori e nemmeno negli animali largamente sperimentati.

Questa obiezione di una possibile refrattarietà, acquisita alla cura, va tenuta presente, essendo necessario che l' organismo non neutralizzi i principî attivi, prima che sia distrutto ogni avanzo, sin l'ultimo gruppo, di cellule neoplastiche per esser sicuri di una vera guarigione stabile, almeno di quel che di blastoma esisteva all'epoca delle iniezioni. Poichè, a mio avviso, non è da attendere un'immunizzazione antineoplastica per

azione degli autolizzati; e, quindi, non sono ammissibili cambiamenti nelle attitudini o nelle condizioni potenziali allo sviluppo di tumori.

Tutte queste considerazioni impongono un severo riserbo nell'apprezzare i risultati primi; i quali se per il significato morfologico e biologico possono valere quel che la ricerca accurata dà mano mano, per quello clinico, come ho già affermato precedentemente, valgono ciò che la lunga osservazione e la larga esperienza, soltanto, possono sanzionare.

Ma appunto perchè la via tracciata, per i presupposti statistici, per le ricerche sperimentali, per i primi risultati clinici, per tutto un complesso di fatti ben accertati, sembra la più adatta all'esito definitivo, bisogna percorrerla vagliando le difficoltà, dalle più gravi alle più minute per avvisare ai mezzi di superarle.

Ho, così esposto per sommi capi l'indirizzo di ricerca che procuro, sempre meglio, definire nei suoi fondamenti e nei suoi limiti, per rivolgerlo razionalmente alla soluzione ultima; e nello stesso tempo, con la divulgazione dei metodi d'indagine, ho agevolato l'altrui collaborazione per estendere e moltiplicare il lavoro, nell'intento di raccogliere una maggior copia di prove, in un campo di studio vasto e difficile.

Fichera. Sugli innesti di tessuti embrionali e fetali. Policlinico, Sez. prat., 1908; Arch. ed Atti Società italiana di Chir., 1909; Annali del R. Istit. chir. di Roma, 1909. — Id. Sull'innesto di tessuti embrionali e fetali durante la gravidanza. Policlinico, Sez. prat., 1909; R, Accad. med. di Roma 1909. — Id. a) Sul comportamento di sede negli innesti di tessuti embrionali e fetali; — b) Sull'immunizzazione ai tessuti embrionali e fetali; — c) Sulla biologia dei tumori spontanei dei ratti. Policlinico, Sez. prat., 1909; R. Accad. med. di Roma, 1909. — Id. Parallelo fra l'innesto di tessuti embrionali e l'innesto di tessuti neoplastici. Policlinico, Sez. prat., 1909; R. Accademia medica di Roma, 1909. — Id. Développement des greffes embryonnaires et foetales; immunisation qu'elles déterminent. Arch. de méd. expérim. et d'anat. pathol., 1909. — Id. Etiologia del cancro. Policlinico. Sez. prat., 1909; Arch. ed Atti Soc. ital. di Chir. Relazione 1909, Atti, 1910; Annali del R. Istituto chir., 1910. — Id. 1. Contributo alla biologia dei tumori. Policlinico, Sez. prat., 1910; R. Accad, med. di Roma, 1910; Bull. Assoc. fra i cultori di Sc. med. e natur. di Roma, in Archivio di Farmacol. e Scienze affini, 1910. — Id. 2. Contributo alla biologia dei tumori. Bull, Assoc. fra i cult. di Sc. med. e naturali di Roma, in Arch. di Farmacol. e Scienze affini, 1910. — Id. 3. Contributo alla biologia dei tumori. R. Accad. med. di Roma, 1910. — Id. L'azione dei prodotti di autolisi fetali, omogenei sui tumori maligni dell'uomo. Policlin, Sez. prat., 1910.
